

آپودیزه کردن گشودگی در میکروسکوپی به روش تمام‌نگاری رقومی

ناصر پرتوی شبستری^۱؛ عیسی علیدخت^۲؛ محمدرضا رشیدیان وزیری^۳؛ مالک محمودی شربیانی^۴

چکیده: در این مقاله روشی برای طراحی گشودگی آپودیزه شده ارائه شده که در آن نیمرخ تراگیسل با درون یابی منحنی درجه سوم تعریف می‌شود. این روش در میکروسکوپی به روش تمام‌نگاری رقومی به کار گرفته شده تا گشودگی تمام‌نگاشت ضبط شده توسط دوربین CCD را به صورت عددی آپودیزه کند. تراگیسل گشودگی آپودیزه شده به طور کلی توسط چهار پارامتر تعریف می‌شود و طوری تنظیم می‌شوند که نوسان‌های شدت ایجاد شده در اثر بازسازی عددی تمام‌نگاشت به حداقل برسد و در عین حال پهنای ناحیه پالایش شده حداکثر باشد.

واژه‌های کلیدی: تمام‌نگاری رقومی، میکروسکوپی، میکروسکوپی تمام‌نگاشتی، بازسازی عددی تصویر

۱. مقدمه

در نورشناخت همدوس هنگامی که در سیستم تصویر برداری، یک گشودگی در مسیر باریکه نور قرار می‌گیرد پراش از لبه‌های گشودگی، نوسان‌هایی در میدان تراگیسل یافته ایجاد می‌کند. یک راه حل برای برطرف کردن این مشکل، آپودیزه کردن^۱ گشودگی است که در آن آهنگ گذر گشودگی از صفر به یک به طور ناگهانی نبوده و بلکه به صورت ملایم و پیوسته باشد. مسئله آپودیزه کردن گشودگی در سال‌های گذشته به طور

مفصل مورد مطالعه قرار گرفته [۱-۵] و توابع متعددی از قبیل گاوسی، سوپر گاوسی یا مثلثاتی پیشنهاد شده تا تراگیسل گشودگی آپودیزه شده تعریف شود. اما یافتن شکل بهینه منحنی برای توصیف آهنگ تراگیسل در عبور از لبه‌ها، کار پیچیده‌ای است که رسیدن به آن توسط توابع تحلیلی مشکل است. همان طور که توسط توماسانی و همکاران نشان داده شده است [۶]، تعریف نیمرخ‌های عبوری با استفاده از روش‌های محاسبه جانشینی عددی راه حل جالبی برای این مشکل توصیه می‌کند.

از طرف دیگر، یک مشخصه جالب میکروسکوپی به روش تمام‌نگاری رقومی این است که فقط با گرفتن یک تمام‌نگاشت، می‌توان به طور هم‌زمان یک تصویر با تمایز دامنه و یک تصویر با تمایز فاز را به دست آورد. در مرجع [۷] اثبات شده که توزیع فاز بازسازی شده اطلاعات کمی و دقیقی را از ساختار سه بعدی سطح نمونه ایجاد می‌کند.

در این مقاله، نیمرخ تراگیسل گشودگی به کمک درون‌یابی منحنی درجه سوم تعریف می‌شود. مزیت این

۱) مربی، پژوهشکده لیزر و اپتیک، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران. آدرس پست الکترونیک: npartovi@aeoi.org.ir

۲) کارشناس فیزیک، پژوهشکده لیزر و اپتیک، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران. آدرس پست الکترونیک:

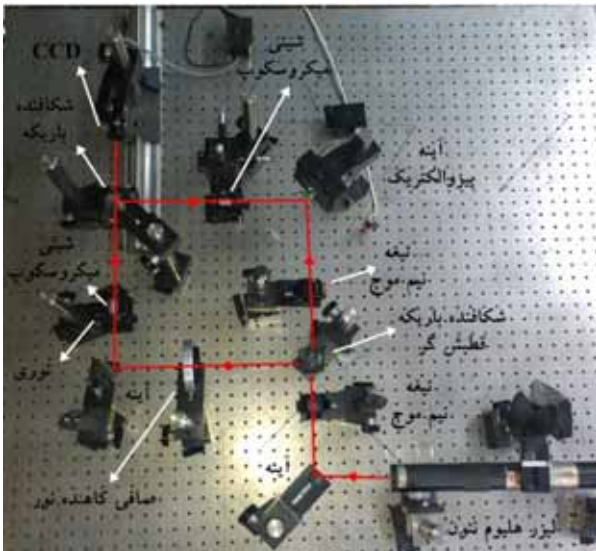
ialidokht@aeoi.org.ir

۳) استادیار، پژوهشکده لیزر و اپتیک، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران. آدرس پست الکترونیک: mrashidian@aeoi.org.ir

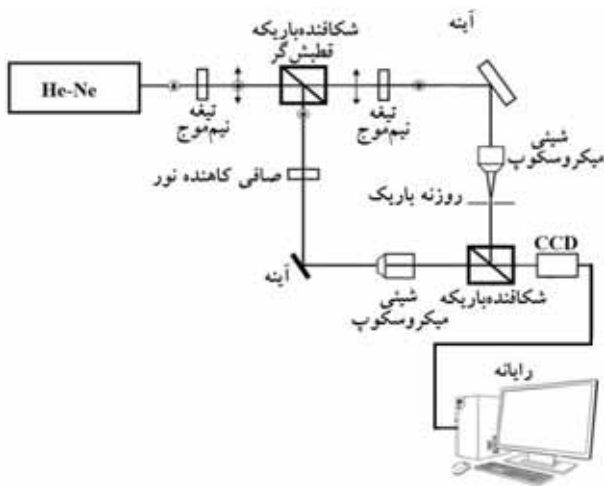
۴) کارشناس فیزیک، پژوهشکده لیزر و اپتیک، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران. آدرس پست الکترونیک:

malekmahmoudi@yahoo.com

شیئی قرار نمی‌گیرد (شکل (۲)) تا یک توزیع یکنواخت ضبط شود و سپس اثرات پراش گشودگی عددی در مرحله بازسازی مورد بررسی قرار گیرد.



شکل ۱: چیدمان تجربی میکروسکوپی به روش تمام‌نگاری رقومی.



شکل ۲: طرح‌واره چیدمان تجربی برای ثبت تمام‌نگاشت رقومی.

روش این است که با تعداد کمی پارامتر، منحنی‌های پیوسته و متنوعی می‌تواند تعریف شود. در موردی که در این جا ارائه شده، تراگسیل دوبعدی از گشودگی آپودیزه شده توسط چهار پارامتر تعریف شده است.

همان طور که در ادامه نشان خواهیم داد، به خاطر اندازه محدود گشودگی تمام‌نگاشت، در لبه‌های تصویر نوسان‌های شدت با بسامد بالا به شکل نوارهای تداخلی ظاهر می‌شوند. این نوسان‌ها در تصویر بازسازی شده آثار غیر واقعی ایجاد کرده و کیفیت آن را پایین می‌آورد. به طور خاص، نوسان‌های فاز در اندازه‌گیری اپتیکی خطا ایجاد می‌کند. در اینجا نشان می‌دهیم که می‌توان این آثار پراشی را با آپودیزه کردن عددی گشودگی تمام-نگاشت کاهش داد.

۲. چیدمان

چیدمان تجربی میکروسکوپی به روش تمام‌نگاری رقومی در شکل (۱) نشان داده شده است. در این چیدمان از لیزر هلیوم نئون پیوسته با خروجی قطبیده خطی استفاده شده است. طول موج لیزر و توان آن به ترتیب $632/8$ نانومتر و 10 میلی‌وات بوده است.

در این چیدمان ابتدا جهت قطبش لیزر توسط تیغه نیم موج ($\lambda/2$) به اندازه دلخواه چرخانده می‌شود و پس از عبور از شکافدار باریکه قطبش‌گر (PBS) مؤلفه‌های عمودی و افقی قطبش، در دو امتداد عمود بر هم خارج می‌شوند. جهت قطبش باریکه مرجع به کمک یک تیغه نیم موج دیگر، با جهت قطبش باریکه شیئی یکسان شده و سپس توسط صافی فضایی پالایش و به کمک عدسی موازی و پس از بازتاب توسط شکافدار باریکه غیرقطبش‌گر (BS) به سمت CCD هدایت می‌شود. باریکه شیئی نیز به طور مستقیم از BS عبور کرده و به سمت CCD می‌رود.

طرح تداخلی دو جبهه موج مرجع و شیئی در روی دوربین CCD به عنوان تمام‌نگاشت رقومی ضبط می‌شود. در این آزمایش هیچ شیئی در مسیر باریکه

$$E(x, y; z) = -\frac{ik}{2\pi z} \exp(ikz) \exp\left[\frac{ik}{2z}(x^2 + y^2)\right]$$

$$\times \iint_{\Sigma_0} dx_0 dy_0 E_0(x_0, y_0) \exp\left[\frac{ik}{2z}(x_0^2 + y_0^2)\right] \exp\left[\frac{ik}{z}(xx_0 + yy_0)\right]$$

$$E(x, y; z) = 2\pi \exp\left[\frac{ik}{2z}(x^2 + y^2)\right] F\{E_0(x_0, y_0) S_F(x_0, y_0; z)\}$$

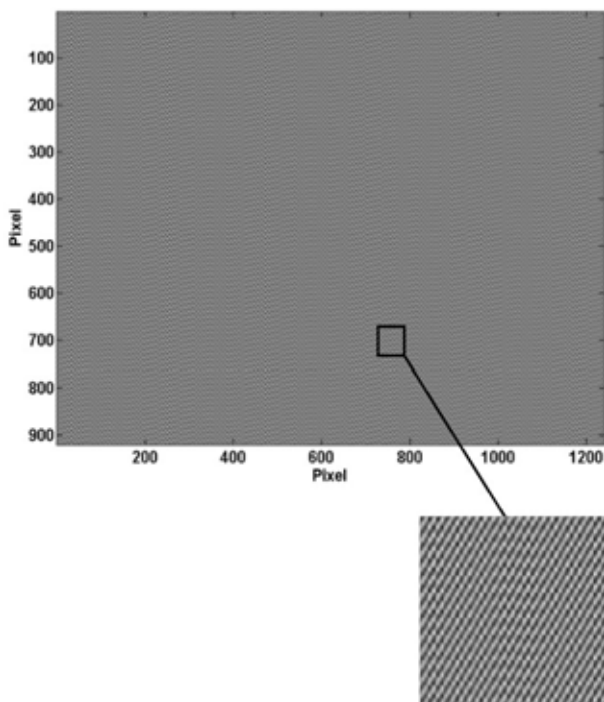
(۴)

که در رابطه (۴) به صورت زیر تعریف می‌شود:

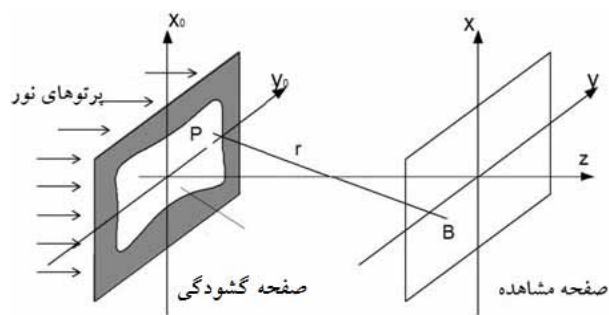
$$S_F(x, y; z) = -\frac{ik}{2\pi z} \exp(ikz) \exp\left[\frac{ik}{2z}(x^2 + y^2)\right]$$

(۵)

با توجه به رابطه‌ی (۴) برای انتشار دادن جبهه موج از محل دوربین CCD $(E_0(x_0, y_0))$ و رسیدن به جبهه موج در روی جسم $(E(x, y))$ کافی است ماتریس S_F را به کمک نرم‌افزار متلب تولید و آن را در ماتریس تمام-نگاشت ضرب و سپس از آن تبدیل فوریه دو بعدی گرفته و سپس در عبارت پشت انتگرال ضرب کنیم.



شکل ۴- تمام‌نگاشت ثبت شده توسط CCD.



شکل ۳: هندسه‌ی پراش از یک گشودگی دو بعدی.

برای یافتن نسبت بهینه شدت‌های باریکه شیئی و مرجع، اولین تیغه نیم موج را در چیدمان می‌چرخانیم و با مشاهده وضوح طرح تداخلی به صورت زنده، نسبت مناسب شدت‌ها را می‌یابیم.

۳. بازسازی تصویر

بازسازی تصویر را می‌توان با حل عددی انتگرال پراش فرنل-کرشهف در رایانه انجام داد:

$$E(x, y; z) = -\frac{ik}{2\pi} \iint_{\Sigma_0} dx_0 dy_0 E_R h \frac{\exp(ikr)}{r} \quad (1)$$

که در آن r فاصله نقاط واقع در دو صفحه ورودی و خروجی، k عدد موج، h تمام نگاشت ذخیره شده توسط CCD و E_R موج مرجع است [۸]. میدان $E_0(x_0, y_0) = E_R h$ در صفحه‌ی گشودگی، در امتداد محور z انتشار پیدا کرده و به میدان $E(x, y; z)$ در صفحه مشاهده تبدیل می‌شود (شکل ۳). در عبارت زیر انتگرال، در تقریب پیرامحوری در مخرج کسر r را می‌توان برابر با z و در صورت آن برابر با

$$r \approx z + \frac{[(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2]}{2z} \quad (2)$$

قرار داد. این شرط در صورتی صحیح است که

$$z^3 \gg \frac{k}{8} [(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2]^2 \quad (3)$$

با استفاده از تقریب فرنل یا تقریب پیرامحوری می‌توان انتگرال پراش فرنل-کرشهف را به صورت زیر نوشت [۸]:

$(T(x_2) = 1)$ و مشتق اول آن صفر در نظر گرفته شده است $(T'(x_2) = 0)$. مشتق اول تابع در مبدا $(T'(x_0))$ ، مختصات نقاط x_1 و x_2 و مقدار تابع در نقطه دوم $(T(x_1))$ چهار پارامتری را تشکیل می دهند که می توانند شکل منحنی را تعریف کنند. نیمرخ تراگسیل نسبت به مرکز گشودگی متقارن است و شکل منحنی تراگسیل می تواند به صورت متقارن در سمت راست و همچنین در بالا و پایین گشودگی قرار گیرد.

در ابتدای کار برای انتخاب مقادیر اولیه چهار پارامتر ذکر شده در بالا، از مرجع [۹] استفاده و پس از انجام برخی ملاحظات مقادیر اولیه زیر:

$$T'(x_0) = 0.51$$

$$x_1 = 151 \text{ pixel}$$

$$T(x_1) = 0.65$$

$$x_2 = 270 \text{ pixel}$$

به دست آمدند.

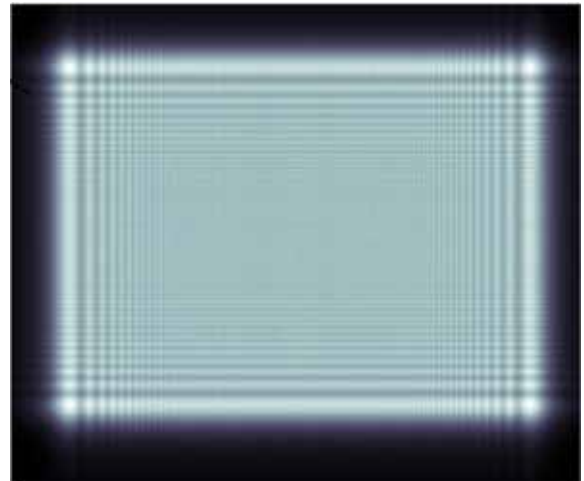
پس از تولید این ماسک به صورت عددی در متلب و ضرب آن در تمام نگاشت، شکل (۸) به دست می آید. پس از اعمال تبدیل فرنل (رابطه ۴) بر روی آن، تصویر بازسازی شده شکل (۹) به دست می آید. همان گونه که مشاهده می شود آثار پراشی با آپودیزه شدن عددی گشودگی تمام نگاشت، کاهش چشمگیری دارد ولی ناحیه قابل استفاده اندکی کاهش یافته است. در ادامه برای داشتن حداکثر ناحیه قابل استفاده و همچنین یافتن حالت بهینه برای حذف نوسانها، با حفظ شکل کلی منحنی، پهنای ناحیه آپودیزه شده (x_2) را در داخل یک حلقه در نرم افزار متلب تغییر داده و اثر آن را در نتیجه نهایی بررسی کردیم. در نهایت مقادیر بهینه زیر برای چهار پارامتر به دست آمدند:

$$T'(x_0) = 0.5122$$

$$x_1 = 166 \text{ pixel}$$

$$T(x_1) = 0.65$$

$$x_2 = 297 \text{ pixel}$$

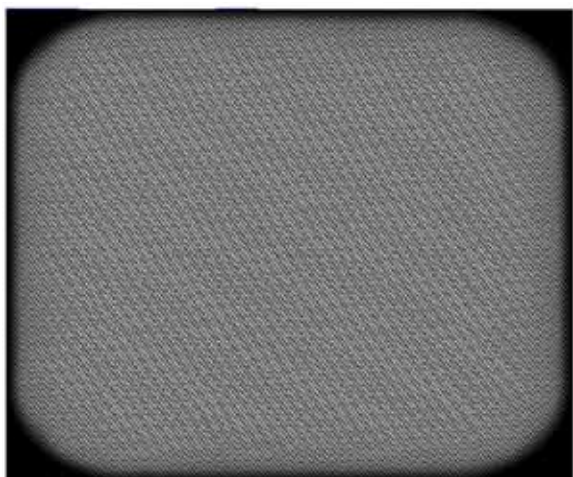


شکل ۵- بازسازی تمام نگاشت قبل از آپودیزه کردن گشودگی.

۴. نتایج

در شکل (۴) تمام نگاشت ثبت شده با استفاده از چیدمان شکل (۲) و در شکل (۵) بازسازی عددی آن با استفاده از نرم افزار متلب مشاهده می شود. فاصله بین جسم تا CCD در چیدمان برابر ۶۰ سانتی متر انتخاب شده است. CCD مورد استفاده دارای پیکسل های مربعی با اندازه $3/75$ میکرومتر و تعداد 1280×960 پیکسل بوده است. بازسازی با استفاده از تبدیل فرنل (رابطه ۴)، و بدون انجام پالایش به انجام رسیده است. در شکل (۶) نوسان های حاصل از پراش لبه های گشودگی در میدان تراگسیل یافته به خوبی قابل مشاهده است.

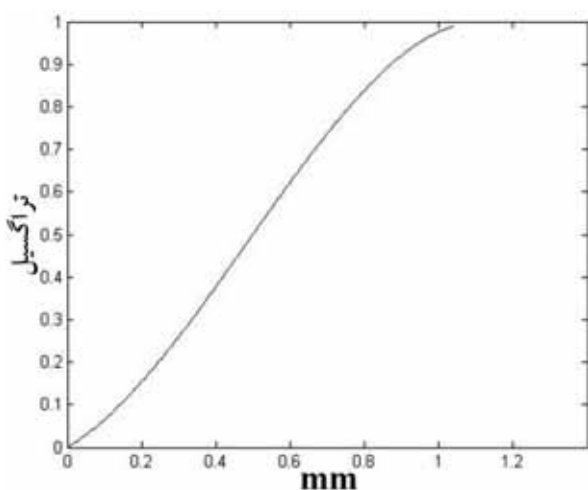
برای حذف این نوفه ها، گشودگی باید آپودیزه شود تا آهنگ گذر گشودگی از صفر به یک به صورت ملایم و پیوسته تغییر کند. منحنی پیشنهادی برای آهنگ تغییر لبه های گشودگی از صفر به یک در شکل (۷) قابل مشاهده است. فرض کنید $T(x)$ منحنی تراگسیل گشودگی، $T'(x)$ مشتق اول آن و (x_0, x_1, x_2) یک مجموعه سه نقطه ای (شکل ۷) و مقادیر تابع $\{T(x_0), T(x_1), T(x_2)\}$ در آن نقاط تعریف شده باشند. مختصه نقطه اول (x_0) و مقدار تابع در این نقطه هر دو صفر هستند $(x_0 = 0, T(x_0) = 0)$ در انتهای منحنی تراگسیل $(x = x_2)$ مقدار تابع برابر با یک



شکل ۸- تمام‌نگاشت ثبت شده پس از اعمال ماسک آپودیزه بر روی آن



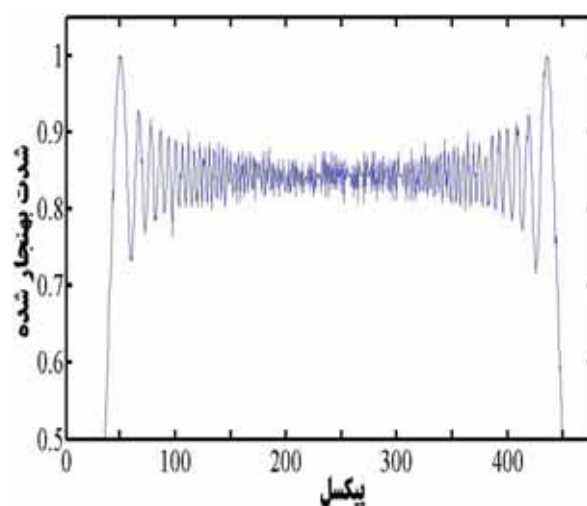
شکل ۹- تمام‌نگاشت بازسازی شده پس از آپودیزه کردن گشودگی.



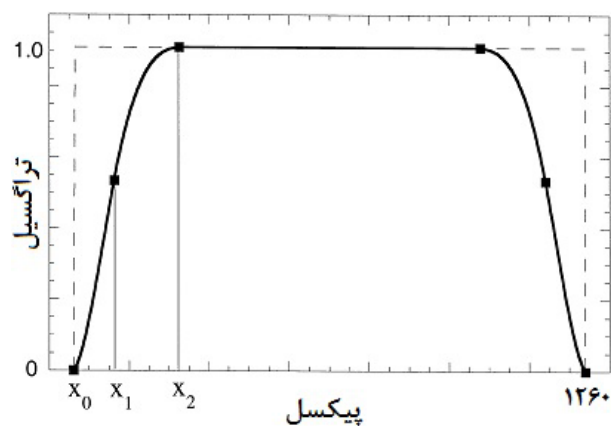
شکل ۱۰- منحنی بهینه به دست آمده برای آپودیزه کردن گشودگی تمام‌نگاشت

منحنی بهینه برای آپودیزه کردن گشودگی در شکل (۱۰) نشان داده شده است.

با اعمال این گشودگی به تمام‌نگاشت و اعمال تبدیل فرنل بر روی آن نتیجه شکل (۱۱) به دست می‌آید. نیم‌رخ تمام‌نگاشت قبل و بعد از آپودیزه شدن در شکل (۱۲) نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود ناحیه پالایش شده به اندازه قابل قبولی یکنواخت است و در انجام مطالعات میکروسکوپی بر روی اجسام در توزیع فاز جسم مزاحمتی را ایجاد نخواهد کرد

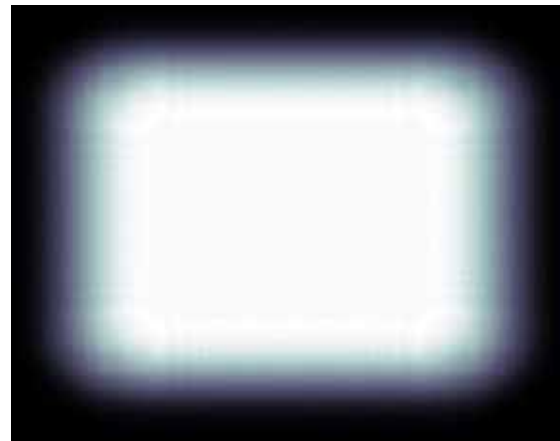


شکل ۶- نیم‌رخ شدت بهنجار شده که از تصاویر توزیع شدت تمام‌نگاشت آپودیزه نشده به دست آمده است.



شکل ۷- منحنی آپودیزه کردن لبه‌های گشودگی تمام‌نگاشت.

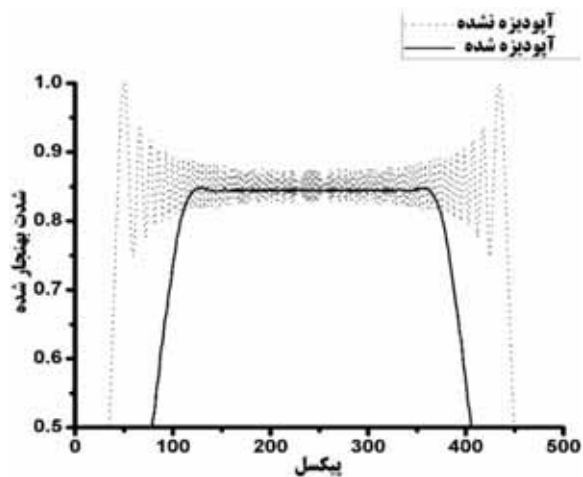
اندازه‌گیری‌های دقیق نوری که به روش تمام‌نگاری رقومی انجام می‌شوند را افزایش خواهد داد. با بهینه‌سازی انجام شده در این کار برای کاستن از پهنای ناحیه آپودیزه شده، کمترین میزان از دست رفتن اطلاعات مربوط به تپ اصلی در اندازه‌گیری‌های تمام‌نگاری رقومی اتفاق خواهد افتاد.



شکل ۱۱- تمام‌نگاشت بازسازی شده پس از آپودیزه کردن گشودگی طبق منحنی شکل (۹).

مراجع

- [1] A.J. Campillo, J.E. Pearson, S.L. Shapiro, N.J. Terrel Jr., "Fresnel diffraction effects in the design of high-power laser systems", *Appl. Phys. Lett.* **23** (1973) 85-87.
- [2] G.R. Hadley, "Diffraction by apodized aperture", *IEEE J. Quantum Electron.* **10** (1974) 603-608.
- [3] T. Araki, T. Asakura, "Coherent apodization problem", *Opt. Commun.* **20** (1977) 373-377.
- [4] J.P. Mills, B.J. Thompson, "Effect of aberration and apodization on the performance of coherent optical systems. II". Imaging, *J. Opt. Soc. Am. A* **3** (1986) 704-716.
- [5] Z. Jaroszewicz, J. Sochacki, A. Kolodziejczyk, L.R. Staronski, "Apodized annular-aperture logarithmic axicon: smoothness and uniformity of intensity distributions", *Opt. Lett.* **18** (1993) 1893-1895.
- [6] R. Tommasini, F. Lowenthal, J.E. Balmer, H.P. Weber, "Iterative method for phase-amplitude retrieval and its application to the problem of beam-shaping and apodization", *Opt. Commun.* **153** (1998) 339-346.
- [7] E. Cucho, F. Bevilacqua, C. Depeursinge, "Digital holography for quantitative phase-contrast imaging", *Opt. Lett.* **24** (1999) 291-293.



شکل ۱۲- نیم‌رخ شدت بهنجار شده که از تصاویر توزیع شدت تمام‌نگاشت آپودیزه نشده (نقطه چین) و آپودیزه شده (توپر) به دست آمده است.

۵- نتیجه‌گیری

در این مقاله برای بازسازی تمام‌نگاشت رقومی از روش آپودیزه کردن گشودگی استفاده و نشان داده شده که بعد از آپودیزه کردن گشودگی تمام‌نگاشت، تصویر بازسازی شده شامل یک منطقه‌ی مرکزی است که در آن نوسان‌های ناشی از اثرات پراش لبه ناچیز است. با استفاده روش آپودیزه کردن گشودگی در میکروسکوپی به روش تمام‌نگاری رقومی، می‌توان نوفه‌های مزاحم نوسانی که باعث تخریب تصویر اصلی می‌شوند را حذف کرد. حذف این نوفه‌های مزاحم، دقت

-
- [8] T.Kreis, "Handbook of holographic interferometry optical and digital methods", John Wiley & Sons (2005).
- [9] E. Cuche, P. Marquet, C. Depeursinge, "Aperture apodization using cubic spline interpolation: application in digital holographic microscopy", *Opt. Commun.* **182** (2000) 59–69.